

Федеральное государственное автономное  
образовательное учреждение  
высшего образования  
«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»  
Институт фундаментальной биологии и биотехнологий  
Кафедра медицинской биологии

УТВЕРЖДАЮ  
Заведующий кафедрой  
Е.И. Шишацкая  
подпись      Инициалы, фамилия  
«          »                                  2020г.

**БАКАЛАВРСКАЯ РАБОТА**

06.03.01 - Биология

Особенности хемилюминесцентной активности нейтрофильных гранулоцитов  
при раке желудка

Руководитель	<u>                                </u> подпись, дата	<u>профессор, д.м.н.</u> должность, ученная степень	<u>О.В. Смирнова</u> инициалы, фамилия
Выпускник	<u>                                </u> подпись, дата		<u>В.Е. Полющенко</u> инициалы, фамилия

Красноярск 2020

## РЕФЕРАТ

Выпускная квалификационная работа по теме «Особенности хемилюминесцентной активности нейтрофильных гранулоцитов у больных с раком желудка» состоит из страниц 36 текстового документа, рисунков 7, использованных 44 источников литературы.

НЕЙТРОФИЛЬНЫЕ ГРАНУЛОЦИТЫ; ХЕМИЛЮМИНИСЦЕНЦИЯ;  
ХЕМИЛЮМИНИСЦЕНТНАЯ АКТИВНОСТЬ; РАК ЖЕЛУДКА.

Целью работы было изучение хемилюминесцентной активности нейтрофильных гранулоцитов у больных с раком желудка в зависимости от стадии..

Проводилась оценка хемилюминесцентной активности нейтрофильных гранулоцитов крови условно здоровых людей и у пациентов с раком желудка, а также с помощью корреляционного метода были выявлены более значимы параметры хемилюминесценции, влияющие на прогрессирование рака желудка нейтрофилов.

В ходе исследования были показано уменьшение показателя максимального значения интенсивности на IV стадии, повышение показателей времени выхода кривой на максимум интенсивности и площади под кривой на всех стадиях заболевания при спонтанной хемилюминесценции нейтрофилов. У пациентов с раком желудка при индуцированной хемилюминесценции нейтрофилов было показано увеличение параметра площади под кривой, увеличение показателя индекса активации на всех стадиях заболевания. Наиболее значимые параметры хемилюминесценции нейтрофилов являются показатели максимального значения интенсивности спонтанной хемилюминесценции нейтрофильных гранулоцитов и площадь под кривой спонтанной и индуцированной хемилюминесценции нейтрофилов.

## СОДЕРЖАНИЕ

Введение.....	4
1 Обзор литературы .....	6
1.1 Клинические и этиологические особенности рака желудка.....	6
1.2 Патогенез рака желудка.....	10
1.3 Диагностические методы онкологических опухолей рака желудка.....	12
1.4 Методы лечения рака желудка .....	13
1.5 Характеристика нейтрофильных гранулоцитов .....	15
2 Материалы и методы исследования .....	21
2.1 Объект исследования .....	21
2.2 Выделение нейтрофильных гранулоцитов из периферической крови....	21
2.3 Хемилюминесцентный метод исследования нейтрофильных гранулоцитов	22
2.4 Статистические методы исследования .....	23
3 Результаты исследования и их обсуждение .....	24
Заключение .....	30
Список сокращений .....	31
Список использованных источников .....	32

## ВВЕДЕНИЕ

Рак желудка (РЖ) является очень распространенным онкологическим заболеванием во всем мире и до сих пор остается основной проблемой здравоохранения [15]. На сегодняшний день РЖ занимает второе место в мире среди причин смерти от онкологических заболеваний [12]. В 2012 г. в мире было выявлено более 950 тыс. случаев РЖ, а около 720 тыс. человек умерли [14]. В настоящее время известно, что с каждым годом постепенно увеличивается число заболеваемости РЖ в возрасте до 30-35 лет [12].

В России рак желудка по заболеваемости занимает 5-е место. В 2016 г. в нашей стране зарегистрировано более 37 тыс. случаев с РЖ. В то же время в структуре смертности РЖ занимает 2-е место, уступая только раку легких. Известно, что в 2016 г. зарегистрировано более 29 тыс. случаев смерти от этой патологии. Поздняя диагностика рака желудка напрямую предопределяет неблагоприятный прогноз заболевания. В нашей стране летальность на 1-м году с момента установления диагноза составляет 48 % [18].

В настоящее время известно, что более 50 % пациентов с РЖ умирают в течение терапии. Так, 5-летняя выживаемость больных в III и IV стадиях заболевания в России не превышает 30 %. Локо-регионарное метастазирование при РЖ происходит уже на ранних стадиях заболевания. Если опухоль ограничивается слизистой оболочкой желудка, регионарные лимфатические узлы поражаются в 3–5 % случаев, при поражении подслизистой основы – у 11–25 % больных, а при поражении серозной оболочки – у 83 % пациентов [24]. В связи с этим необходимо новые методы лечения в данной патологии.

В современной литературе описано, что больные с раком желудка почти 90% случаев во всем мире заражаются *Helicobacter pylori* (*H. pylori*), что является наиболее важным фактором риска развития опухоли [9].

В настоящее время известно, что 53 % больных составляют мужчины в возрасте 55-56 лет при наличии хронических заболеваний желудка (хронический атрофический гастрит, хронический эрозивный гастрит,

хроническая язва желудка), гиперпластических полипов с кишечной метаплазии и *H. pylori* [36].

В последние годы связь между воспалением и онкологическим заболеванием широко изучается в клинических испытаниях. Воспаление в микроокружении опухоли играет главную роль в пролиферации и выживании злокачественных клеток [32]. Важным звеном патогенеза РЖ, является процесс взаимодействия опухоли с иммунной системой организма человека. Нейтрофильные гранулоциты (НГ) – клетки иммунной системы, которые активно участвуют в реализации противоопухолевого ответа, то есть участвуют в уничтожении клеток, которые подверглись к мутациям, а также первыми из клеток иммунной системы мигрируют к опухоли на ранних стадиях ее формирования [40]. Однако злокачественная опухоль неоднозначно влияет на функцию нейтрофилов - уменьшает их хемотаксическую активность. [4].

Целью данной работы явилось изучение хемилюминесцентной активности нейтрофильных гранулоцитов у больных с раком желудка в зависимости от стадии. Для достижения указанной цели были поставлены следующие задачи:

- Изучить особенности спонтанной хемилюминесцентной активности нейтрофильных гранулоцитов у больных с раком желудка в зависимости от стадии;
- Изучить особенности индуцированной хемилюминесцентной активности нейтрофильных гранулоцитов при раке желудка в зависимости от стадии;
- Выявить наиболее значимые параметры хемилюминесценции, влияющие на прогрессирование рака желудка нейтрофильных гранулоцитов.

## **1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ**

### **1.1 Клинические и этиологические особенности рака желудка**

Опухоль – это патологический процесс, в котором происходит бесконтрольное размножение клеточных элементов без их созревания. Рост опухоли не имеет ограничений и не регулируется организмом [39].

Канцерогенез имеет три стадии: инициация, продвижение, прогрессирование. Инициация происходит благодаря приобретению первичной мутации в клетке, которая способствует к увеличению клеточному росту. На стадии продвижения происходит также генетические изменения клеток, однако в этой стадии клетки подвергаются митотическому делению. На последней стадии возникает процесс превращения в злокачественные клетки [14].

Выделяют два типа опухоли: доброкачественная и злокачественная (аденокарцинома). Основные особенности злокачественной опухоли:

1. Происходит нарушение обмена веществ: происходит усиленный анаэробный гликолиз, что способствует накоплению молочной кислоты в клетках опухоли, в следствии чего увеличивается кислотность и приводит к наращению жизнедеятельности самой клетки с формированием зоны некроза в центре опухоли;
2. В отличии от доброкачественной опухоли, аденокарцинома не имеет капсулы;
3. Клетки опухоли могут метастазироваться, особенно на поздних стадиях заболевания;
4. Характерен инфильтрирующий рост, т.е. прорастают окружающие ткани и органы, а доброкачественные опухоли, в свою очередь, оттесняют окружающие ткани;
5. Злокачественные опухоли проявляют свои признаки на клеточном и тканевом уровне, а доброкачественные опухоли только на тканевом;
6. Кахексия – это крайнее истощение больного, которое приводит к неблагоприятному исходу и характерна злокачественным опухолям [37].

Выделяют следующие классификации опухоли желудка:

- I. Классификация по макроскопической структуре опухоли по R. Bormann (1926):
- I тип – полиповидная или грибовидная опухоль;
  - II тип – изъятая опухоль с приподнятыми краями (блюдцеобразная форма);
  - III тип – инфильтративно-язвенная опухоль;
  - IV тип – диффузная инфильтративная опухоль.
- II. Международная морфологическая классификация
- 1. Аденокарцинома:
    - a) Папиллярная;
    - b) Тубулярная;
    - c) Муцинозная;
    - d) Перстневидноклеточный рак.
  - 2. Железисто-плоскоклеточный рак;
  - 3. Плоскоклеточный рак;
  - 4. Недифференцированный рак;
  - 5. Неклассифицируемый рак [42]
- III. Международная классификация по системе TNM (2009) [43]:
- T – первичная опухоль (глубина инвазии стенки желудка)**
  - T<sub>x</sub> – недостаточно данных для оценки первичной опухоли;
  - T<sub>0</sub> – первичная опухоль не определяется;
  - T<sub>is</sub> – опухоль в пределах слизистой без инвазии собственной пластинки (тяжелая дисплазия);
  - T<sub>1</sub> – опухоль проникает в собственную или мышечную пластинку слизистой оболочки, подслизистый слой;
  - T<sub>1a</sub> – опухоль в собственной или мышечной пластинке слизистой оболочки;
  - T<sub>1b</sub> – опухоль в подслизистом слое;
  - T<sub>2</sub> – опухоль в мышечном слое;

T<sub>3</sub> – проникновение опухоли в субсерозу (подсерозную основу) висцеральной брюшины без инвазии;

T<sub>4</sub> – в серозную оболочку (висцеральную брюшину) или соседние структуры

T<sub>4a</sub> – серозная оболочка (висцеральная брюшина)

T<sub>4b</sub> – в соседние структуры (селезенка, поперечная ободочная кишка, печень, диафрагма, поджелудочная железа, передняя брюшная стенка, надпочечник, почка)

**N – лимфатические узлы, пораженные метастазами**

N<sub>x</sub> – регионарные лимфатические узлы не могут быть оценены;

N<sub>0</sub> – нет метастазов в регионарных лимфатических узлах;

N<sub>1</sub> – от 1 до 2 пораженных лимфатических узлов;

N<sub>2</sub> – от 3 до 6 пораженных лимфатических узлов;

N<sub>3</sub> – 7 и более пораженных лимфатических узлов;

N<sub>3a</sub> – метастазы в 7-15 регионарных лимфатических узлах;

N<sub>3b</sub> – метастазы в 16 и более регионарных лимфатических узлах.

**M – отдельные метастазы**

M<sub>0</sub> – нет отдаленных метастазов;

M<sub>1</sub> – наличие отдельных метастазов.

В таблице 1 представлены стадии рака желудка по классификации системе TNM [43].

Таблица 1 – Стадии рака желудка по международной классификации по системе TNM (2009)

<b>Стадия 0</b>	T <sub>is</sub>	N <sub>0</sub>	M <sub>0</sub>
<b>Стадия I A</b>	T <sub>1</sub>	N <sub>0</sub>	M <sub>0</sub>
<b>Стадия I B</b>	T <sub>2</sub>	N <sub>0</sub>	M <sub>0</sub>
	T <sub>1</sub>	N <sub>1</sub>	M <sub>0</sub>
<b>Стадия II A</b>	T <sub>3</sub>	N <sub>0</sub>	M <sub>0</sub>
	T <sub>2</sub>	N <sub>1</sub>	M <sub>0</sub>
	T <sub>1</sub>	N <sub>2</sub>	M <sub>0</sub>
<b>Стадия II B</b>	T <sub>4a</sub>	N <sub>0</sub>	M <sub>0</sub>



	T <sub>3</sub>	N <sub>1</sub>	M <sub>0</sub>
	T <sub>2</sub>	N <sub>2</sub>	M <sub>0</sub>
	T <sub>1</sub>	N <sub>3</sub>	M <sub>0</sub>
<b>Стадия III А</b>	T <sub>4a</sub>	N <sub>1</sub>	M <sub>0</sub>
	T <sub>3</sub>	N <sub>2</sub>	M <sub>0</sub>
	T <sub>2</sub>	N <sub>3</sub>	M <sub>0</sub>
<b>Стадия III В</b>	T <sub>4b</sub>	N <sub>0</sub> , N <sub>1</sub>	M <sub>0</sub>
	T <sub>4a</sub>	N <sub>2</sub>	M <sub>0</sub>
	T <sub>3</sub>	N <sub>3</sub>	M <sub>0</sub>
<b>Стадия III С</b>	T <sub>4b</sub>	N <sub>2</sub> , N <sub>3</sub>	M <sub>0</sub>
	T <sub>4a</sub>	N <sub>3</sub>	M <sub>0</sub>
<b>Стадия IV</b>	Любое Т	Любое N	M <sub>1</sub>

Более 90 % всех злокачественных опухолей желудка встречаются аденокарциномы [41].

На ранних стадиях развития рака желудка клинических симптомов, как правило, не бывает. Однако возможен общий дискомфорт в верхнем отделе брюшной полости. Могут возникнуть болевые ощущения при наличии воспаления.

Первые признаки заболевания выявляются на поздних стадиях развития онкологического заболевания и зависят от локализации опухоли и характер ее роста, морфологическое строение, вовлечение в процесс соседних органов, а также общие расстройства жизнедеятельности организма [17]. При достижении определенных размеров опухоли появляется тошнота, рвота с кровью, боли в верхних отделах живота натощак и после еды, черный стул, понижение артериального давления, дисфагия.

Факторы, которые повышают риск развития рака желудка, включают:

1. Питание - употребление большого количество соли, копченных или консервированных продуктов, диета с низким содержанием витаминов А и С, некачественная еда и вода;
2. Внешней среды и образа жизни – курение, радиационное облучение, профессиональное воздействие угля и резины;

3. Наследственные факторы – генетическая предрасположенность;
4. Инфекционные факторы – наличие бактерии *Helicobacter pylori* или вируса Epstein-Barr [2, 6, 13].

В настоящее время известно, что наследственный тип РЖ встречается только 1-3% в популяции, чаще всего встречается приобретенный тип рака желудка [6].

## **1.2 Патогенез рака желудка**

В патогенезе опухолевого роста выделяют следующие стадии:

1. Стадия инициация – происходит превращение нормальной клетки в опухолевую двумя путями: мутационным и эпигеномным. В первом случае возникают генные мутации, которые приводят к экспрессии генов – инициаторов клеточного деления. Во втором случае происходит нарушение нормальной регуляции генома в условиях отсутствия мутаций, что возникает бесконтрольный рост;
2. Стадия промоции – выраженная пролиферация аденокарциномы;
3. Стадия опухолевой прогрессии – проявляются усиленно малигнизующие свойства опухоли, т.е. в нормальных клетках происходит нарушение дифференцировки и пролиферации [37].

Рак желудка считается крайней ступени каскада Correa. Это последовательный процесс изменения слизистой оболочки желудка (СОЖ) из-за высокого инфицирования *H. pylori*, который включает в себя следующие стадии: хронический поверхностный гастрит, атрофический гастрит, кишечная метаплазия, дисплазия, рак желудка. Этот процесс описал колумбийский патолог Пелайо Корреа в 1988 году. Предраковыми состояниями принято считать такие стадии как атрофический гастрит, где происходит истощение СОЖ, кишечная метаплазия и дисплазия желудка [3, 6].

Кишечная метаплазия имеет два основных типа: тонкокишечная (полная или тип I) и толстокишечная (неполная, тип II и III). По данным молекулярно-генетическими исследованиями известно, что развитие опухоли связано с толстокишечной метаплазией [29]. Однако кишечная метаплазия сочетается с

двумя ее типами, отсюда следует, что, возможно, неполная метаплазия развивается из кишечной метаплазией типа I. В настоящее время известно, что 65% случаев выявляют кишечную метаплазию на ранней стадии РЖ. Больше объем замещения эпителия кишечной метаплазией - больше условий для развития опухоли [37].

Дисплазия желудка – это патологический процесс, при котором происходит неправильное развитие клеток. Имеет три стадии: низкая, умеренная и высокая (I тип, II тип, III тип соответственно). Иными словами, дисплазия - это процесс изменения клеток и тканевой совокупности от нормальной структуры. И этот процесс направляет на развитие опухоли [37].

На сегодняшний день известно, что *H. pylori* не только может изменять структуру СОЖ, но и секрецию гастрина. Это пептидный гормон желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), который стимулирует секрецию желудочного сока и участвует в росте ЖКТ. При нормальном функционировании гастрин высвобождается из G-клеток антрального отдела желудка, когда попадает пища, где он затем понижает кислотность и растягивает стенки желудка. Гастрин циркулирует в периферической крови и связывается с рецепторами холецистокининами-B (ССК-B) на париетальных и энтерохромаффинных (ECL-клетки) клетках желудка. ECL-клетки активируют рецепторы париетальных клеток при помощи гистамина, где из соляной кислоты (HCl) высвобождается протон  $H^+$ . Протон участвует в ингибировании гастрина, который возвращается к антральному отделу желудка и активирует соматостатин, а он, в свою очередь, является ингибитором гастрина [11].

*H. pylori*, а также атрофический гастрит и хроническое использование ингибиторов протонной помпы для лечения язвенной болезни и гастроэзофагеальной рефлюксной болезни (ГЭРБ) являются причиной повышения уровня гастрина в сыворотке крови в результате нарушения обратной связи [11]. Также известно, что эпителиальные клетки желудка, экспрессирующие рецепторы ССК-B, могут вырабатывать собственный гастрин *de novo*. Исследования показывают, что при повышенном уровне гастрина

происходит интенсивный рост клеток желудка, а это, в свою очередь, может быть причиной риска развития РЖ [9, 10]. Стратегии прерывания взаимодействия гастрина с рецептором ССК-В могут обеспечить новый подход к лечению рака желудка [11].

### **1.3 Диагностические методы онкологических опухолей рака желудка**

Имеется различные способы ранней диагностики РЖ:

- Эндоскопия (ЭГДС) - позволяет визуально распознать опухоль, определить её размеры, место, а также получить материал для морфологического исследования (биопсия). Эффективность метода увеличивается при использовании дополнительных современных технологий эндоскопии (хромозендоскопия, использование флуоресцентной диагностики и т.д.);
- Эндоскопическое УЗИ (эндосонография) - выполняется до начала лечения онкологического заболевания и позволяет определить глубину инвазии опухоли, а также наличие патологически измененных или увеличенных лимфоузлов;
- Рентгеноконтрастное исследование – с помощью этого метода можно определить место и протяженность поражения структуры из-за опухоли. Однако для ранней диагностики РЖ не рекомендуется использовать, так как это исследование имеет низкую информативность;
- КТ органов и брюшной полости – выявляет отдаленные метастазы. В отличие от УЗИ, не требует подготовки пациента к процедуре. Однако имеет несколько недостатков: высокая стоимость, лучевая нагрузка, низкая информативность при оценке глубины инвазии опухоли и состояния лимфатических узлов [25].
- Общий анализ крови – проверяется на количество эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов;
- Биохимический анализ крови – определяет концентрацию веществ, поступающих в кровь из органов и тканей (билирубин, холестерин,

глюкоза, ферменты печени и т.д.). Отклонение от нормы может быть признаком болезни.

Также в диагностирование онкологических заболеваний используют метод определения раковых маркеров или онкомаркеров – это вещества, которые вырабатываются либо опухолью, либо организмом в ответ на присутствие новообразования. Это могут быть: белки и продукты белкового распада опухоли, ферменты, антигены и гормоны [28]. В настоящее время известно несколько видов онкомаркеров, которые обладают опухоле- и органоспецифичностью. Для РЖ характерны следующие онкомаркеры: СА 72-4, раково-эмбриональный антиген (РЭА), который содержит 6 тканевых маркеров, поэтому этот антиген увеличивается при различной тканевой локализации опухолей и метастазировании, а также СА 19-9 [25, 27, 28]. Перечисленные онкомаркеры используют для диагностики, мониторинга и прогноза РЖ. Лабораторные показатели становятся информативными только тогда, когда их интерпретируют с учетом данных клинического наблюдения.

Таким образом, главную роль в определении методов лечения рака желудка играет дооперационная диагностика, которая направлена на определение глубины инвазии, то есть местного распространения новообразования в пределах СОЖ, а также наличие или отсутствие метастазов.

#### **1.4 Методы лечения рака желудка**

Основным методом лечения рака желудка остается хирургический.

В настоящее время известно, что в хирургической практике используют 3 основных вида оперативных вмешательств: радикальные, паллиативные и симптоматические.

Радикальная операция – это удаление опухоли в пределах здоровых тканей, удаление регионарного лимфатического аппарата. Такая операция имеет два направления: резекция участков желудка и лимфаденэктомия. Эту операцию проводят на раннем этапе развития рака, то есть без наличия метастазов[5].

Паллиативную операцию используют при удалении возможно большей части опухоли для того, чтобы приостановить прогрессирования процесса возникновения рака, а также устранить и профилактировать развития новообразования.

Симптоматические операции используют для устранения полученных осложнений при онкологического заболевания (например, остановка кровотечения, ушивание перфорации и т.д.) [6, 24].

Хирургические операции имеют три основные требования. Во-первых, необходимо обеспечивать радикализм; во-вторых, гарантировать надежность; в-третьих, способствовать максимально возможному восстановлению функции ЖКТ [43].

Однако есть исследования, которые показывают, что больше половины пациентов после использования хирургических радикальных операций погибают в ближайшие годы в результате локо-регионарных рецидивов. Частота смертности достигает 30–50 % случаев [24]. Также есть исследования, которые показывают, что после хирургического вмешательства у пациентов могут проявляться следующие симптомы: дефицит витамина В<sub>12</sub>, нарушение функции пилорического сфинктера, рефлюкс, потеря веса, синдром демпинга, ранняя сытость после еды [6].

При наличии отдаленных метастазов хирургическое лечение противопоказано. Операцию в этих случаях выполняют только по жизненно необходимым показаниям больного, у которого имеются осложнения от ракового процесса (перфорация, кровотечение, стеноз). На сегодняшний день известна частота желудочных кровотечений при раке желудка, которая варьируется от 4 до 30 % [24, 25].

В настоящее время известно, что хирургическая резекция является оптимальным решением для пациентов с раком желудка, при этом около 50% пациентов, получающих лечебную резекцию, умирают в течение 5 лет после постановки диагноза [15].

Дополнительный метод лечения РЖ это лучевая терапия. Применение такой терапии до операции может уменьшить рост опухоли и облегчить ее удаление, а после операции может улучшить результаты лечения из-за снижения риска появления рецидива на месте удаления.

Также используют химиотерапию для лечения метастазов РЖ. Использование химиотерапии увеличивает продолжительность жизни пациентов с наличием метастазов опухоли. Однако химиотерапия показала лишь скромную выгоду со средней выживаемостью приблизительно 10 месяцев [14]. Кроме того, химиотерапия имеет много побочных эффектов.

Стадия опухоли РЖ определяет эффективность и стратегию лечения. Есть исследования, которые показывают, что пациентам с ранней стадии РЖ назначают радикальную операцию с химиотерапией и их 5-летняя выживаемость составляет 90%, отсюда следует, что эффективная терапия действует на раннем этапе заболевания. Однако на ранней стадии РЖ частота выявления заболевания низкая, и поэтому у большинства пациентов онкологическое заболевание развивается на поздней стадии [15].

Таким образом, комплексный подход способствует выработке оптимального лечения у больных раком желудка.

### **1.5 Характеристика нейтрофильных гранулоцитов**

Нейтрофильные гранулоциты (НГ) – это гранулярные лейкоциты в крови, обладающие фагоцитарной активностью, а также являются первой линией защиты в месте инфекции или воспаления [4].

Являются участниками врожденного иммунитета в защите против антигенов, таких как вирусы и бактерии. Нейтрофилы связаны с адаптивным иммунным ответом, включая влияния на маргинальную зону В-клеток, дендритные клетки, Т-клетки, а также контролируют гомеостаз киллерных клеток (NK) [23, 31]. Кроме того, эти неспецифические фагоциты играют патогенетическую роль при диабете, атеросклерозе, формировании тромбов. Функция нейтрофилов состоит в быстрой реализации иммунных реакций, которые направлены, в первую очередь, на уничтожение патогена [31]. НГ

продуцируются в костном мозге, где они накапливаются до того, как будут выпущены циркадным способом в кровяное русло. В циркуляции, НГ поступают в ткани и участвуют в реакциях при обнаружении сигналов опасности, вызванными антигенами. Это осуществляется путем быстрой миграции в поврежденную ткань, за которой следует фагоцитоз [7, 23]. Также есть исследования, которые показывают, что НГ могут регулировать функциональную активность таких фагоцитов как моноциты и макрофаги, повышая их противомикробную способность [32]. В воспалительных тканях НГ могут участвовать вместе с макрофагами, дендритными клетками, НК-клетками, лимфоцитами, а также мезенхимальными стволовыми клетками [4].

Свои функциональные способности НГ выполняются с помощью мощного дыхательного аппарата, который обеспечивает взаимосвязи как в системе НГ, так и нейтрофилов с клетками эндотелия, эпителия, клетками иммунной системы и различными тканями. Нейтрофилы богаты запасом рецепторов, которые позволяют реагировать на малейшие изменения иммунитета и функционируют как биологические сенсоры. На мембране НГ экспрессируется комплекс рецепторов к различным лигандам: цитокинам, иммуноглобулинам, мембранным молекулам других клеток и т.д. [31] (рис. 1).

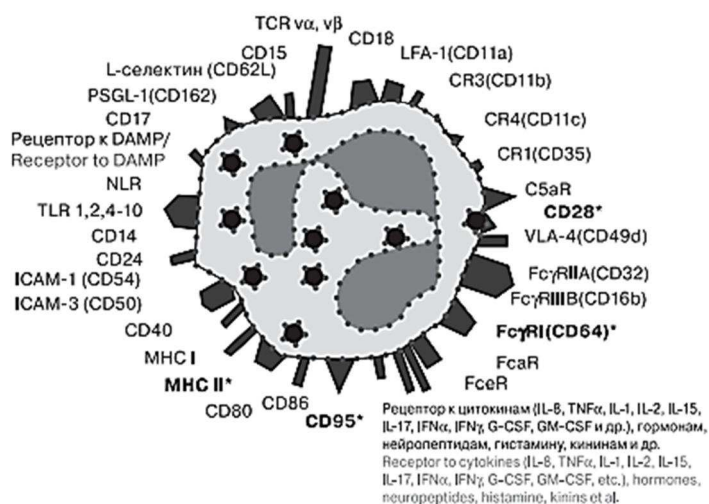


Рисунок 1 - Поверхностные мембранные рецепторы нейтрофильных гранулоцитов, [31, Т. 7, с. 221]

Примечание: \*активизированный нейтрофил



В крови организма человека содержится  $2,0 — 7,5 \times 10^9/\text{л}$  нейтрофильных гранулоцитов, что составляет 50 — 70 % от общего числа лейкоцитов крови. Также в крови присутствует некоторое количество палочкоядерных нейтрофилов –  $0,04 - 0,3 \times 10^9/\text{л}$ , т.е. 1-6%. Срок пребывания НГ в циркуляции периферической крови составляет 7—10 ч. После циркуляции эти клетки иммунной системы покидают кровотоки и мигрируют в ткани, а именно 30% нейтрофилов - мигрируют в печень и костный мозг, а около 15 % — в селезенку [44].

Нормальное количество нейтрофилов крови свидетельствует о том, что в организме отсутствуют воспалительные процессы.

Нейтрофильные гранулоциты имеют 2 субпопуляции:

- 1 Нейтрофилы-киллеры. Составляют маргинальный пул и часть циркулирующего пула (около 60 %). Взаимодействуют с субстратом и по необходимости интенсивно продуцируют активные формы кислорода (АФК), вследствие чего происходит инактивация, рН и  $\text{Na}^+$  -,  $\text{K}^+$  - зависимые, могут вовлекаться в апоптоз;
- 2 Нейтрофилы-кейджеры. Это фагоциты, которые менее продуцируют АФК, функционируют независимо от рН и содержания в среде  $\text{Na}^+$  или  $\text{K}^+$ . Входят в циркулирующий пул примерно 40%. Имеют более проницаемые мембраны, не взаимодействуют с субстратом. [23].

При активации НГ происходит респираторный взрыв, а следом образование первичных и вторичных АФК, которые включают свободные радикалы, ионы кислорода и кислородсодержащие химические группы. Первичные АФК образуются в ферментативных реакциях, протекающих в клетках (перекись водорода  $\text{H}_2\text{O}_2$ , супероксид  $\cdot \text{O}_2^-$ , монооксид азота  $\text{NO} \cdot$ ; гипохлорит  $\text{ClO}^-$ , монооксид углерода  $\text{CO}$ ). Вторичные АФК образуются в результате взаимодействия друг с другом или другими молекулами (гидроксильный радикал  $\cdot \text{OH}$ , диоксид азота  $\text{NO}_2 \cdot$  и другие) [37]. Образование первичных и вторичных АФК зависит от размера патогена [4].

Образование активных форм кислорода происходит в мембране фаголизосом с помощью фермента NADPH-оксидазы.

NADPH-оксидаза (КФ 1.6.3.1) – это фермент класса оксидоредуктазов, который содержит каталитическую субъединицу Nox2, называемая также  $\beta$ -субъединицей цитохрома  $b_{558}$ , состоит из 570 аминокислот. В настоящее время известно, что этот фермент экспрессируется не только в фагоцитах, но и в нейронах, кардиомиоцитах, миоцитах скелетных мышц, гепатоцитах, эндотелиальных клетках и гемопоэтических стволовых клетках [1, 19]. Большая часть NADPH-оксидазы находится в гранулах, которые при стимуляции фагоцитов перемещаются к плазматической мембране клетки. Гранулы сливаются с фагосомальной мембраной, и затем происходит самосборка NADPH-оксидазы, а вслед за этим – активация фермента. Однако есть исследования, которые показывают, что активация фермента может быть осуществлена без сливания гранул с мембраной [19]. После активации NADPH-оксидазы происходит генерация АФК, являющийся главным продуктом респираторного взрыва.

Выделение АФК происходит ступенчато. Сначала происходит образование супероксида  $\cdot O_2^-$ . Среднее время жизни в тканях составляет  $10^{-3}$ - $10^{-6}$  секунд [30]. Он быстро дисмутирует или спонтанно при низких значениях pH в перекись водорода  $H_2O_2$ , у которого среднее время жизни составляет несколько секунд. Также в образовании перекиси могут участвовать супероксиддисмутазы (СОД), которые являются катализаторами реакции. Другие элементы каскадного образования АФК включают реакцию супероксида  $\cdot O_2^-$  и монооксид азота  $NO \cdot$  с образованием пероксинитрита  $ONOO^-$ , а также образование из перекиси гипохлорита  $HOCl$  и гидроксильного радикала  $OH\cdot$  (рис.2). Его среднее время жизни в тканях составляет  $10^{-6} - 10^{-9}$  секунд [19, 30].

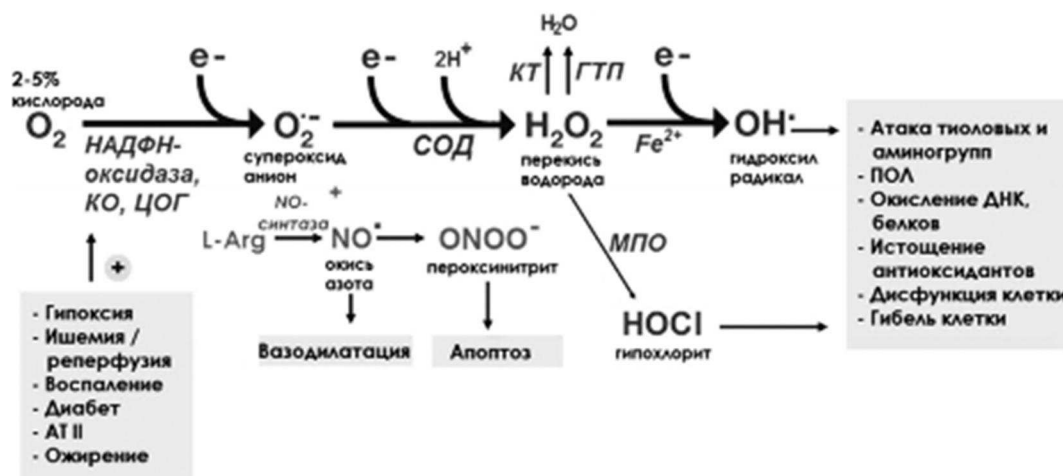


Рисунок 2 – Каскадная реакция образования активных форм кислорода [30, Т. 12, с.14]

Активность респираторного взрыва НГ определяется уровнями синтеза АФК и опосредует процессы фагоцитоза и киллинга. Однако при чрезмерном накоплении АФК возникает окислительный стресс, что приводит к окислительным модификациям нуклеиновых кислот, липидов, белков, изменяя их структуру и функций, и, следовательно, вызывает различные патологии [1, 16, 37]. При врождённых и наследственных заболеваниях, термических ожогах и обморожениях, лучевой терапии, онкологических заболеваниях происходит снижение АФК, так как понижается функциональная активность NADPH-оксидазы [37].

В последние годы значительный интерес вызывают исследования роли нейтрофильных гранулоцитов в онкогенезе. Они активно вовлекаются в реализацию противоопухолевого ответа, т.е. они участвуют в уничтожении мутировавших клеток и первыми из клеток иммунной системы мигрируют к опухоли на ранних стадиях ее формирования [34]. Главную роль в регрессии опухоли отводят АФК, активным формам азота и цитокинам, продуцируемым нейтрофилами [16].

Однако злокачественная опухоль влияет на функцию НГ, уменьшает их хемотаксическую активность [32]. Опухоль богата такими факторами как IFN- $\gamma$ , IL1- $\beta$ , IL-6, IL-8, GM-CSF, G-CSF, VEGF. Вероятно, эти провоспалительные факторы задерживают апоптоз нейтрофилов. Например, IL-8, секретируемый опухолью, играет важную роль в привлечении НГ к опухоли. [13]

На сегодняшний день появляются исследования, в которых показывают, что на ранних стадиях развития опухоли НГ проявляют противоопухолевую активность [39]. В то же время проопухолевое действие нейтрофилов проявляется на более поздних сроках (III-IV стадии) онкологического заболевания [13].

Таким образом особенности функциональной активности НГ влияют на защиту иммунитета организма человека. При онкологических заболеваниях наблюдаются нарушения в системе клеточно-гуморального иммунитета.

## **2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

### **2.1 Объект исследования**

Всего обследовано 112 пациентов, разделенных на две группы. Первая группа состояла из 40 пациентов с раком желудка, а вторая группа из условно здоровых людей в возрасте от 28 до 86 лет (средний возраст  $64 \pm 7,6$  лет).

Исследование проводилось с разрешения этического комитета ФГБНУ ФИЦ КНЦ СО РАН «НИИ медицинских проблем Севера», каждый участник исследования подписал форму добровольного информированного согласия. Материалом исследования служила венозная кровь, которую брали у пациентов из локтевой вены до терапии в вакуумные пробирки с литий гепарином утром натощак.

### **2.2 Выделение нейтрофильных гранулоцитов из периферической крови**

Берется 2 мл цельной венозной крови и смешивается с 3 мл физиологического раствора для снижения вязкости крови. Далее смесь наслаивается на двойной градиент плотности растворов фиколла. Плотность верхнего слоя градиента составляет 1,077 (2 мл) – для выделения лимфоцитов, а нижний – 1,119 (2 мл) – для выделения НГ. После этого проводят центрифугирование при 1500 об/мин на 40 минут. В пробирке наблюдаем, что граница между градиентами появляется кольцо гранулоцитов, а эритроциты осаждаются на дно пробирки. Кольцо нейтрофилов аккуратно собирают, переносят в центрифужные пробирки с 1 мл физиологическим раствором. Затем снова центрифугируют 1500 об/мин 5 минут. После этого добавляется 1 мл раствор Хенкса, который содержит раствор неорганических солей и глюкозы в очищенной воде. Затем из полученного раствора, берется 10 мкл, и добавляют в планшет с 40 мкл уксусной кислоты, суспензируют. Далее идет подсчет клеток с помощью камеры Горяева.

Полученная клеточная взвесь используется в исследовании функциональной активности НГ с помощью метода хемилюминесценции.

### **2.3 Хемилюминесцентный метод исследования нейтрофильных гранулоцитов**

В качестве метода изучения противоопухолевой активности НГ использовался хемилюминесцентный анализ спонтанной и индуцированной продукции АФК.

Хемилюминесценция (ХЛ) – это свечение, в котором сопровождаются химические реакции. Уникальность этого метода заключается в том, что с легкостью регистрирует активные радикалы, концентрация которых в объекте исследования может быть мала [35]. Хемилюминесцентная активность характеризует состояние респираторного взрыва нейтрофилов, который развивается при взаимодействии клеток с объектами фагоцитоза [38]. Индуцированная ХЛ – это свечение клеток, вызванное воздействием индукторов, которые запускают метаболические реакции, приводящие к синтезу АФК или органических свободных радикалов. В качестве индуктора, в нашем исследовании, служил опсонизированный зимозан, который является полисахаридом, содержащийся в клеточной стенке некоторых видов бактерий. Спонтанная ХЛ – это свечение клеток, возникающая без вмешательств извне [21].

Оценку спонтанной и индуцированной хемилюминесценции осуществляли в течение 90 минут на 36-канальном биохемилюминесцентном анализаторе “PLM 3607” (Россия). Регистрация результатов и управление анализатором осуществлялись через персональный компьютер. Определялись следующие характеристики: время выхода кривой на максимум интенсивности хемилюминесценции ( $T_{max}$ ), максимальное значение интенсивности хемилюминесценции ( $I_{max}$ ), площадь под кривые хемилюминесценции ( $S$ ), а также индекс активации, которое показывает соотношение площади под кривой индуцированной к площади спонтанной хемилюминесценции.

В качестве усилителя хемилюминесценции использовали люминол. Он способен вступать в хемилюминесцентную реакцию с АФК как вне клеток, так и внутри клеток, вступая в реакцию в фаголизосомах [22].

## **2.4 Статистические методы исследования**

Статистическая обработка данных проводилась с помощью пакетов прикладных программ Statistica 6.0 (StatSoft, США). Для всех данных определяли медиану (Me) и интерквартильный разброс (C25-C75), статистическую значимость различий определяли с использованием рангового критерия Манна-Уитни ( $p < 0,05$ ). Для исследования силы взаимосвязей показателей вычислялся коэффициент ранговой корреляции по Спирмену ( $r$ ).

### 3 РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Мы провели анализ хемилюминесцентной активности нейтрофильных гранулоцитов у больных с раком желудка относительно контроля, который представлен в таблице 2.

Таблица 2 - Показатели хемилюминесцентной активности нейтрофильных гранулоцитов у больных с раком желудка относительно контрольной группы

Показатели	Контроль (1), N=72		РЖ (2) (I стадия), N=15		РЖ (3) (II стадия), N=13		РЖ (4) (III стадия), N=6		РЖ (5) (IV стадия), N=6	
	Me	C <sub>25</sub> -C <sub>75</sub>	Me	C <sub>25</sub> -C <sub>75</sub>	Me	C <sub>25</sub> -C <sub>75</sub>	Me	C <sub>25</sub> -C <sub>75</sub>	Me	C <sub>25</sub> -C <sub>75</sub>
I <sub>max</sub> спонтанная (y.e.)	191 33	15134- 30541	178 31	13456- 23467	1668 7,3	11630- 24159	1532 7	11987- 19876	1423 6	10987 - 18756
									<b>p<sub>1-5</sub>&lt;0,05</b>	
T <sub>max</sub> спонтанная (сек.)	969	615- 1753	112 3	1115- 1765	1395	1283- 1836	1589	1347- 1976	1629	1328 - 2001
			<b>p<sub>1-2</sub>&lt;0,001</b>		<b>p<sub>1-3</sub>&lt;0,001</b>		<b>p<sub>1-4</sub>&lt;0,001</b>		<b>p<sub>1-5</sub>&lt;0,001</b> <b>p<sub>2-5</sub>&lt;0,05</b>	
Sq <sub>gr</sub> спонтанная (*10 <sup>6</sup> )	0,22	0,15- 0,54	3,1	2,4-5,9	5,0	3,39- 7,4	7,21	4,87- 8,3	7,9	5,01- 9,0
			<b>p<sub>1-2</sub>&lt;0,001</b>		<b>p<sub>1-3</sub>&lt;0,001</b>		<b>p<sub>1-4</sub>&lt;0,001</b>		<b>p<sub>1-5</sub>&lt;0,05</b> <b>p<sub>2-5</sub>&lt;0,001</b>	
I <sub>max</sub> индуцирова нная (y.e.)	349 40	10488- 41588	273 47	20812- 30507	2980 3	16689- 32635	3012 3	27982- 33654	3000 1	24289 - 36201
T <sub>max</sub> индуцирова нная (сек.)	138 0,8	796- 1586	143 2	1410- 1789	1394	1304- 1505	1479	1356- 1666	1500	1300 - 1723
Sq <sub>gr</sub> индуцирова нная (*10 <sup>6</sup> )	0,4	0,15- 0,95	4,5	3,9-5,1	6	5,3- 12,8	9,3	8,1-9,5	9,7	8,9 – 10,4
			<b>p<sub>1-2</sub>&lt;0,001</b>		<b>p<sub>1-3</sub>&lt;0,001</b>		<b>p<sub>1-4</sub>&lt;0,001</b>		<b>p<sub>1-5</sub>&lt;0,001</b> <b>p<sub>2-5</sub>&lt;0,05</b>	
Индекс активации	1,3	0,9-2,0	2,5	2,1-3,3	2,69	1,37- 3,1	3,01	2,9-3,4	3,6	3,0-3,9
			<b>p<sub>1-2</sub>&lt;0,001</b>		<b>p<sub>1-3</sub>&lt;0,001</b>		<b>p<sub>1-4</sub>&lt;0,001</b>		<b>p<sub>1-5</sub>&lt;0,001</b>	

Примечание:

p<sub>1-2</sub> – статистически значимые различия между показателями больных раком желудка (I стадии) и контрольной группой;

p<sub>1-3</sub> - статистически значимые различия между показателями больных раком желудка (II стадии) и контрольной группой;

p<sub>1-4</sub> - статистически значимые различия между показателями больных раком желудка (III стадии) и контрольной группой;

p<sub>1-5</sub> - статистически значимые различия между показателями больных раком желудка (IV стадии) и контрольной группой;

p<sub>2-5</sub> - статистически значимые различия между показателями больных раком желудка (IV стадии) и раком желудка (I стадии);



Показатель максимального значения интенсивности спонтанной хемилюминесцентной активности нейтрофильных гранулоцитов у больных с раком желудка на IV стадии был снижен по сравнению с контрольной группы (рис.3), что показывает, в свою очередь, низкую функциональную способность НГ. На I, II и III стадиях не имела статистических различий с контрольной группой.

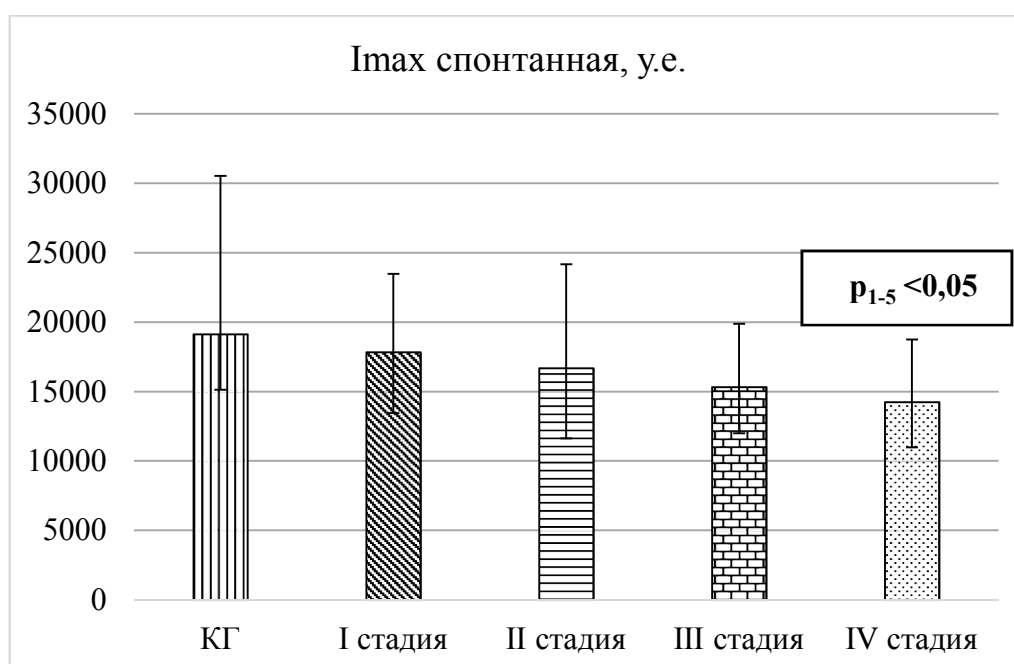


Рисунок 3 – Показатель максимального значения интенсивности спонтанной хемилюминесценции нейтрофильных гранулоцитов у больных раком желудка относительно контроля

Медиана времени выхода кривой на максимум интенсивности спонтанной хемилюминесценции показал повышения активности нейтрофилов на I, II, III стадиях относительно контрольной группы. На I стадии РЖ показатели были низкие относительно IV стадии рака желудка (рис.4).

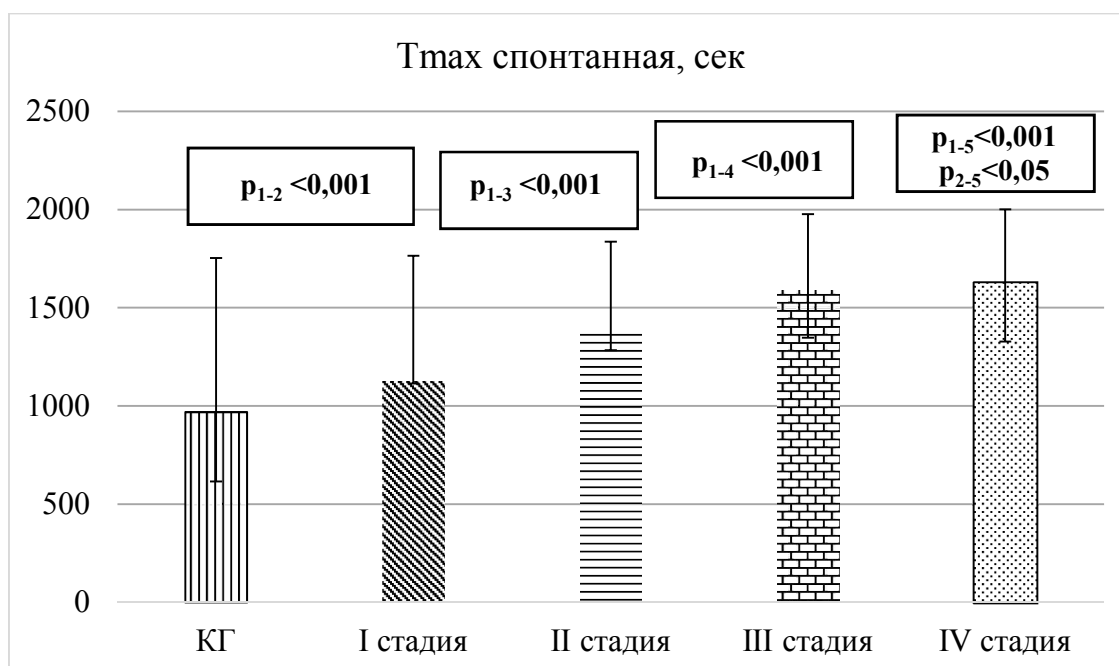


Рисунок 4 – Показатель времени выхода кривой на максимум интенсивности спонтанной хемилюминесценции нейтрофильных гранулоцитов у больных раком желудка относительно контроля

Показатель площади под кривой спонтанной хемилюминесцентной активности нейтрофильных гранулоцитов у больных с раком желудка на I-III стадиях был больше относительно контроля. Кроме того, у пациентов с IV стадией РЖ также было показано повышения активности НГ по сравнению с I стадией рака желудка. Однако активность НГ у контроля показатели понижались относительно больных с IV стадии РЖ (рис. 5).

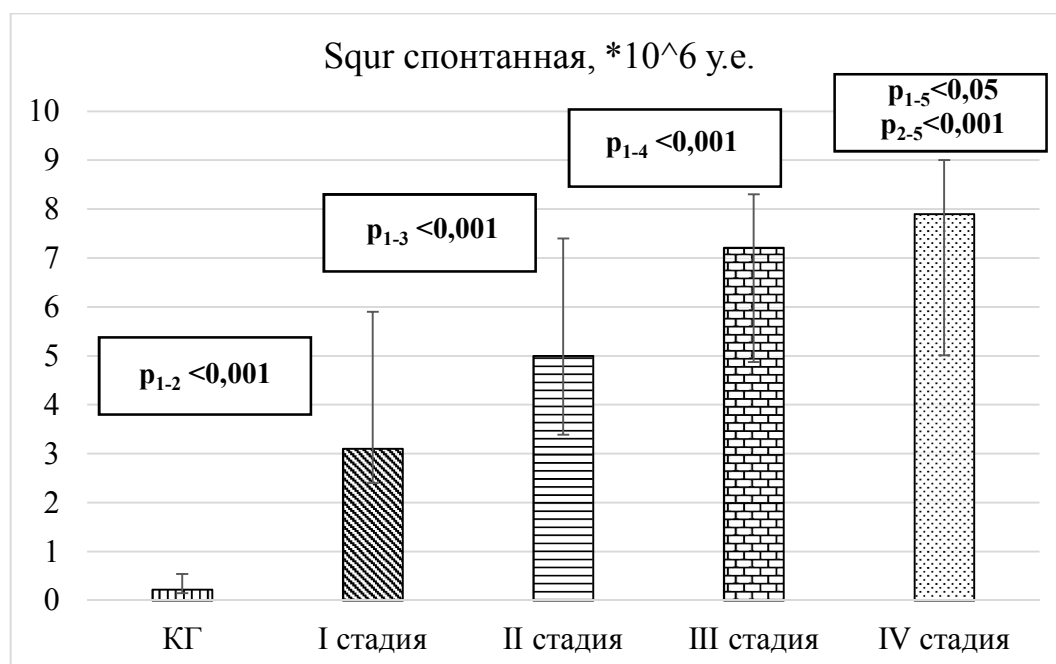


Рисунок 5 – Показатель площади под кривой спонтанной хемилюминесценции нейтрофильных гранулоцитов у больных раком желудка относительно контроля

Дополнительная стимуляция «респираторного взрыва» нейтрофильных гранулоцитов зимозаном в норме приводит к увеличению продукции АФК нейтрофилами крови.

Показатель площади под кривой индуцированной хемилюминесцентной активности показал повышения на всех стадиях заболевания относительно контроля. На IV стадии отмечалось статистически значимое увеличение по сравнению с I стадией рака желудка (рис. 6).

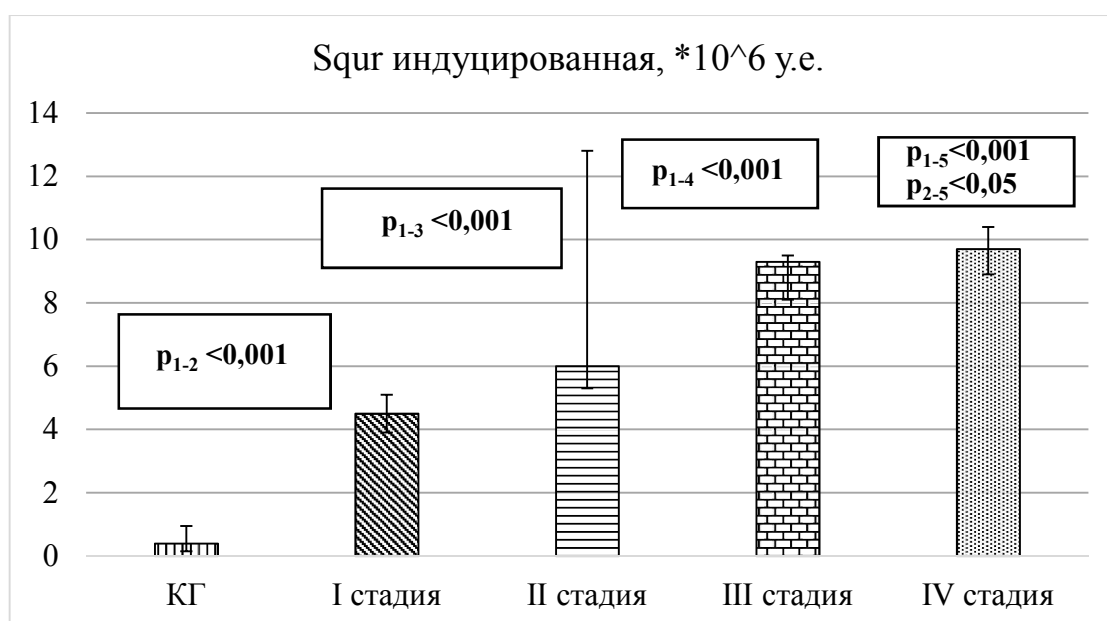


Рисунок 6 – Показатель площади под кривой индуцированной хемилюминесценции нейтрофильных гранулоцитов у больных раком желудка относительно контроля

Медиана отношений площади под кривой индуцированной к площади спонтанной хемилюминесцентной активности НГ показал повышение на всех стадиях РЖ по сравнению с контрольной группой (рис. 7). Это свидетельствует о способности нейтрофилов к усиленному синтезу АФК для реализации респираторного взрыва.

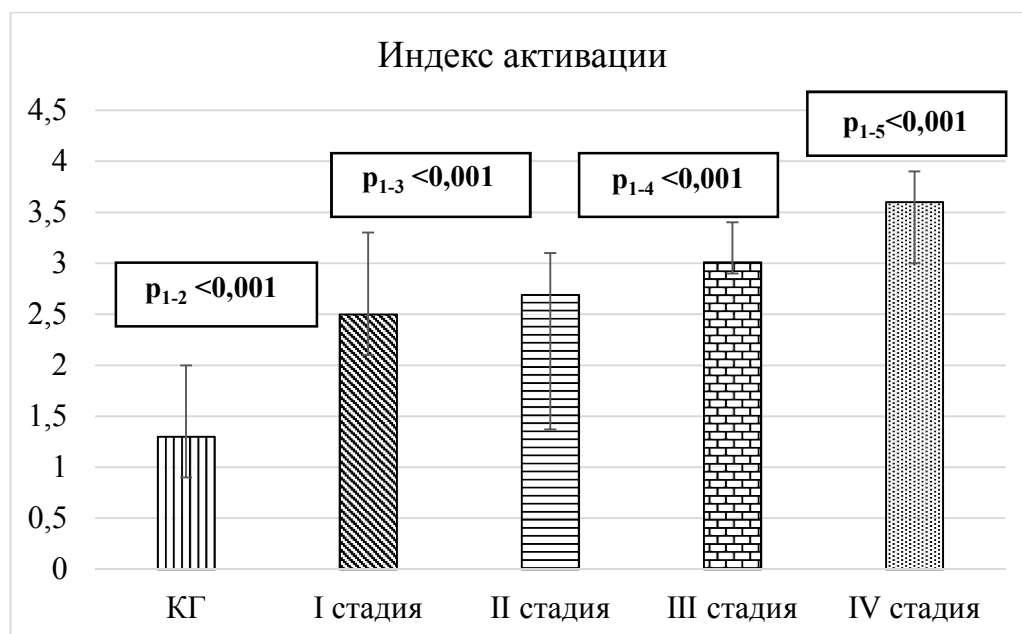


Рисунок 7 – Показатель индекса активации нейтрофильных гранулоцитов у больных раком желудка относительно контроля

После индукции хемилюминесцентного ответа опсонизированным зимозаном медианы времени выхода кривой на максимум и максимального значения интенсивности не показал статистических различий на всех стадиях заболевания.

Таким образом, мы наблюдаем, что при спонтанной хемилюминесцентной активности НГ у больных с I-III стадиях рака происходит по сравнению с контроля повышение таких показателей как: время выхода кривой на максимум интенсивности и площадь под кривой. Однако на IV стадии происходит повышения в этих показателях. Также на последней стадии рака желудка наблюдается понижения медианы максимального значения интенсивности спонтанной хемилюминесценции по сравнению с условно здоровых людей.

При индуцированной хемилюминесцентной активности НГ повышается показатель площади под кривой на всех стадиях заболевания. Однако на I стадии показатель был ниже, чем на IV стадии РЖ. Также было увеличение показателя индекс активации нейтрофилов на всех стадиях заболевания.

С помощью корреляционного анализа были определены более значимые параметры хемилюминесценции в зависимости от стадии рака желудка. Так, у больных с раком желудка отрицательно коррелирует стадия заболевания с показателем максимального значения интенсивности спонтанной хемилюминесценции ( $r = -0,58$ ,  $p < 0,05$ ), т.е. чем больше стадия заболевания, тем меньше будет показатель.

У пациентов с РЖ положительно коррелирует стадия заболевания с показателем времени выхода кривой на максимум интенсивности спонтанной хемилюминесценции ( $r = 0,21$ ,  $p < 0,001$ ). Кроме того, у больных с РЖ выявляются положительные взаимосвязи между стадией заболевания и параметром площади под кривой спонтанной хемилюминесценции ( $r = 0,60$ ,  $p < 0,05$ ), т.е. чем больше стадия, тем больше параметр.

При индуцированной хемилюминесценции у больных с РЖ положительно коррелирует стадия онкологического заболевания с параметром площади под кривой ( $r = 0,63$ ,  $p < 0,05$ ). Также у пациентов с раком желудка выявляются положительные взаимосвязи между стадией РЖ с показателем индекса активации, который показывает соотношение площадей под кривой спонтанной и индуцированной хемилюминесценции ( $r = 0,25$ ,  $p < 0,001$ ).

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Известно, что у больных с злокачественной опухлостью НГ могут проявлять как противоопухолевую, так и проопухолевую активность. В нашем анализе показано:

- При спонтанной хемилюминесценции нейтрофилов у больных с раком желудка выявлялось уменьшение показателя максимального значения интенсивности, увеличение показателей времени выхода кривой на максимум интенсивности и площади под кривой на всех стадиях заболевания, при этом максимальное значение показателей наблюдалось на IV стадии РЖ;
- При индуцированной хемилюминесценции нейтрофилов было обнаружено увеличение параметра площади под кривой, показателя индекса активации на всех стадиях заболевания. Однако максимальное значение показателей выявлялось на IV стадии рака;
- Наиболее значимые параметры хемилюминесценции нейтрофилов, влияющие на прогрессирование рака желудка, являются показатели максимального значения интенсивности спонтанной хемилюминесценции нейтрофилов и площадь под кривой спонтанной и индуцированной хемилюминесценции нейтрофильных гранулоцитов.

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ССК-В – рецептор холецистокинина-В

ECL-клетки – энтерохромаффинные клетки

*H. pylori* – *Helicobacter pylori*

HCl – соляная кислота

NK-клетки – киллерные клетки

АФК – активные формы кислорода

ГЭРБ – гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь

ЖКТ – желудочно-кишечный тракт

НГ – нейтрофильные гранулоциты

РЖ – рак желудка

РЭА – раково-эмбриональный антиген

СОД – супероксиддисмутаза

СОЖ – слизистая оболочка желудка

ХЛ – хемилюминесценция

## СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Bedouhene, S. Luminol-amplified chemiluminescence detects mainly superoxide anion produced by human neutrophils / S. Bedouhene [et al.] // American Journal of Blood Research. – 2017. – Vol. 7, № 4. – PP. 41-48;
2. Boland, C. R. Historical Perspective on Familial Gastric Cancer / C. R. Boland, M. B. Yurgelun // Cellular and Molecular Gastroenterology and Hepatology. – 2017. – Vol. 3, № 2. – PP. 192-200;
3. Correa, P. Gastric Cancer: Overview / P. Correa // Gastroenterology clinics of North America. – 2013. – Vol. 42, № 2. – PP. 211-217;
4. Fresno, C. Neutrophils acROSc The Enemy Lines / C. Fresno, A. Hidalgo // Immunity. – 2017. – Vol. 46, № 3. – PP. 421-432;
5. Fugazzola, P. Advanced gastric cancer: the value of surgery / P. Fugazzola [et al.] // Acta Biomedica. – 2018. – Vol. 89, № 8, PP. 110-116;
6. Jaehong, K. Tumor-Associated Macrophages and Neutrophils in Tumor Microenvironment / K. Jaehong, B. Jong-Sup // Mediators of Inflammation. – 2016. – Vol. 2016. – PP. 1-12;
7. Jose, A. Neutrophils in Homeostasis, Immunity, and Cancer / A. Jose, M. Jose, A. Hidalgo // Immunity. - 2017. - PP. 15-28;
8. Kyung, E. L. Mediation Effect of Adaptation on the Quality of Life in Patients with Gastric Cancer Undergoing Gastrectomy: A Structure Equation Model / Kyung E. L., Kyung H. L. // Asian Nursing Research. – 2019. – Vol. 13, № 1. – PP. 38-46;
9. Moss, S. M. The Clinical Evidence Linking Helicobacter pylori to Gastric Cancer / S. M. Moss // Cellular and Molecular Gastroenterology and Hepatology. – 2017. - Vol. 3, № 2. – PP. 183 – 191;
10. Piotrowski, I. Interplay between inflammation and cancer / I. Piotrowski, K. Kulcenty, W. Suchorska // Reports of Practical Oncology & Radiotherapy. – 2020. – Vol. 25, № 3. – PP. 422-427;



11. Sheng, W. Hypergastrinemia Expands Gastric ECL Cells Through CCK2R<sup>+</sup> Progenitor Cells via ERK Activation / W. Sheng [et al.] // Cellular and Molecular Gastroenterology and Hepatology. – 2020. – Vol. 22, № 2. – PP. 210 – 227;
12. Smith, J. P. Gastrin and Gastric Cancer / J. P. Smith [et al.] // Cellular and Molecular Gastroenterology and Hepatology. – 2017. – Vol. 4, № 1. – PP. 75 – 83;
13. Swierczak, A. Neutrophils: important contributors to tumor progression and metastasis / A. Swierczak [et al.] // Cancer Metastasis Rev. - 2015. - Vol. 34. - PP. 735-751;
14. Torre, L. A. Global cancer statistics / L. A. Torre [et al.] // CA Cancer J Clin. – 2015. – Vol. 65, № 2. – PP. 87-108;
15. Xin-Ji, Z. The prognostic role of neutrophils to lymphocytes ratio and platelet count in gastric cancer: a meta-analysis / Z. Xin-Ji [et al.] // International Journal of Surgery. – 2015. – Vol. 21. – PP. 84-91;
16. Zheyu, S. Progress in the treatment of advanced gastric cancer / S. Zheyu [et al.] // Tumor Biology. – 2017. – Vol. 39, № 7. – PP. 1 – 7;
17. Антоненкова, Н. Н. Онкология : учеб. пособие / Н. Н. Антоненкова [и др.]; под. общ. ред. И. В. Залуцкого. – Минск : Выш. шк., 2007. – 703 с.;
18. Бакулин, И. Г. Профилактика и ранняя диагностика рака желудка / И. Г. Бакулин [и др.] // Доказательная гастроэнтерология. – 2018. – Т. 2. – С. 44-58;
19. Бизунок, Н. А. Структурно-функциональные особенности Nox2-НАД(Ф)Н-оксидазы / Н. А. Бизунок // Известия национальной академии наук Беларуси. Серия медицинских наук. – 2016. – Т. 1. – С. 117-128;
20. Борбашев, Т. Т. Расширенные и расширенно-комбинированные хирургические вмешательства при осложненном раке желудка (обзор литературы) / Т. Т. Борбашев, М. Ю. Харитонов // Вестник КРСУ. Профилактическая медицина. – 2016. – Т. 16, № 11. – С. 102-105;
21. Владимиров, Ю.А. Сверхслабые свечения при биохимических реакциях / Ю.А. Владимиров. – Москва: Наука – 1966. – С.126;

22. Владимиров, Ю. А. Свободные радикалы и клеточная хемилюминесценция / Ю. А. Владимиров, Е. В. Проскурнина // Успехи биологической химии. - 2009. - Т. 49. - С. 341-388;
23. Герасимов, И. Г. Субпопуляции нейтрофилов периферической крови и возможности нст-теста в диагностике заболеваний новорожденных / И.Г. Герасимов // Лабораторная диагностика. – 2011. – Т.56, №2. – С.10 – 14;
24. Давыдов, М. И. Современная стратегия хирургического лечения рака желудка / М. И. Давыдов, М. Д. Тер-Ованесов // Современная онкология. - 2000. - Т. 2, № 1. - С. 160;
25. Долгушин, И. И. Секреторные функции нейтрофилов / И. И. Долгушин, А. Ю. Савочкина // Аллергология и иммунология. – 2015. – Т. 16, №2. – С. 210 – 212;
26. Заздравная, А. В. Онкомаркеры и их клиническое значение / А. В. Заздравная // Здравоохранение Югры: опыт и инновации. – 2016. – Т. 7, № 2. – С. 26-32;
27. Ивашкин, В. Т. Раннее выявление онкологических заболеваний органов пищеварения (методическое руководство Российской гастроэнтерологической ассоциации и Ассоциации онкологов России для врачей первичного звена здравоохранения) / В. Т. Ивашкин [и др.] // Клинические рекомендации. – 2019. – Т. 29, № 5. – С. 53 – 74;
28. Коковкина, О. Е. Онкомаркеры: возможности и перспективы / О. Е. Коковкина // Главный врач Юга России – 2016. – Т. 4, № 55. – С. 26-28;
29. Куртасова, Л. М. Клинические аспекты функциональных нарушений нейтрофильных гранулоцитов при онкопатологии / Л. М. Куртасова, А. А. Савченко, Е. А. Шкапова. - Новосибирск : Наука, 2009. - С. 184;
30. Маслов, Л. Н. Активные формы кислорода – внутриклеточные сигнальные молекулы / Л. Н. Маслов [и др.] // Российский физиологический журнал им. И. М. Сеченова. – 2017. – Т. 103, № 10. – С. 1089 – 1105;

31. Нестерова, И. В. Двойственная роль нейтрофильных гранулоцитов в реализации противоопухолевой защиты / И. В. Нестерова [и др.] // Иммунология. - 2012. - № 5. - С. 281-285;
32. Нестерова, И. В. Новый взгляд на нейтрофильные гранулоциты: переосмысление старых догм. Часть 1 / И. В. Нестерова [и др.] // Инфекция и иммунитет. - 2017. - Т. 7, № 3. - С. 219-230;
33. Нестерова, И. В. Новый взгляд на нейтрофильные гранулоциты: переосмысление старых догм. Часть 2 / И. В. Нестерова [и др.] // Инфекция и иммунитет. - 2018. - Т. 8, № 1. - С. 7-18;
34. Новиков, В. Е. Роль активных форм кислорода в физиологии и патологии клетки и их фармакологическая регуляция / В. Е. Новиков, О. С. Левченкова, Е. В. Пожилова // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2014. – Т. 12, №4. – С. 13-21;
35. Образцов, И.В. Хемилюминесцентный анализ клеток крови в медицине: история, теория, практика / И. В. Образцов, М. А. Годков // Молекулярная медицина. – 2013. - №4. – С. 3-9;
36. Пегашева, И. Л. Предикторы развития рака желудка: предраковые изменения слизистой оболочки желудка (кишечная метаплазия и дисплазия), факторы патогенности *Helicobacter pylori* (Cag A, Vac A) / И. Л. Пегашева, И. М. Павлович, А. В. Горденко // Вестник Российской Военно-медицинской академии. – 2017. – Т. 4, № 60. – С. 147-152;
37. Полежаева, Т. В. Влияние факторов различной природы на степень активности НАДФН-оксидазы нейтрофилов в крови / Т. В. Полежаева [и др.] // Биологические науки. – 2015. – №2. – С. 2170 – 2173;
38. Савченко, А. А. Особенности фагоцитарной активности и состояния респираторного взрыва нейтрофилов крови у больных распространенным гнойным перитонитом в динамике послеоперационного периода / А. А. Савченко [и др.] // Инфекция и иммунитет. - 2017. - Т. 7, № 1. - С. 51-60;

39. Смирнова, О. В. Патифизиология : учеб. пособие : в 2 ч. Ч. 2 / О. В. Смирнова, Е. И. Шишацкая, А. В. Барон. – Красноярск : Сиб. федер. ун-т, 2019. – 96 с.;
40. Смирнова, О. В. Роль нейтрофильных гранулацитов в генезе опухолевых заболеваний / О. В. Смирнова [и др.] // В мире научных открытий. - 2016. - Т. 77, № 5. - С. 38-53;
41. Солодинова, О. С. Предикторы рака желудка / О. С. Солодинова // Известия Российской военно-медицинской академии. – 2019. – Т. 2, №1. – С. 173-176;
42. Стилиди, И. С. Современные представления об основных принципах хирургического лечения местно-распространенного рака желудка / И. С. Стилиди, С. Н. Неред // Практическая онкология. – 2009. – Т. 10, №1. – С. 20-27;
43. Харнас, С. С. Рак желудка (клиника, диагностика, лечение): метод. пособие / С. С. Харнас, В. В. Левкин, Г. Х. Мусаев. – Москва : Моск. мед. академия им. И. М. Сеченова, 2006. – 84 с.;
44. Ярилин, А. А. Иммунология / А. А. Ярилин. - Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2010. - С. 752;1

Федеральное государственное автономное  
образовательное учреждение  
высшего образования  
«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»  
Институт фундаментальной биологии и биотехнологий  
Кафедра медицинской биологии

УТВЕРЖДАЮ

Заведующий кафедрой

Е.И. Шишацкая  
Инициалы, фамилия  
« 3 » июля 2020г.

**БАКАЛАВРСКАЯ РАБОТА**

06.03.01 - Биология

Особенности хемилюминесцентной активности нейтрофильных  
гранулоцитов при раке желудка

Руководитель

26.02.20  
подпись, дата

профессор, д.м.н.

должность, ученная степень

О.В. Смирнова

инициалы, фамилия

Выпускник

26.02.20  
подпись, дата

В.Е. Полющенко

инициалы, фамилия

Красноярск 2020